

PENGARUH MINYAK ATSIRI KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) TERHADAP SINTESIS PROSTAGLANDIN E₂ SEL MAKROFAG MENCIT YANG DISTIMULASI DENGAN BAKTERI *Actinobacillus actinomycetemcomitans* IN VITRO

Tetiana Haniastuti, Regina TC. Tandellin dan Heni Susilowati
Bagian Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada

ABSTRAK

Sel makrofag berperan penting dalam inisiasi dan regulasi respon inflamasi karena kemampuannya dalam menghasilkan mediator-mediator biologis misalnya prostaglandin E₂ (PGE₂) setelah terstimulasi oleh komponen-komponen bakteri. Prostaglandin E₂ merupakan vasodilator dan kofaktor yang berperan dalam peningkatan permeabilitas vaskular yang terjadi pada area inflamasi dan merupakan mediator terjadinya demineralisasi tulang. Kencur (*Kaempferia galanga* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang dipercaya berpotensi sebagai imunomodulator. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji efektivitas minyak atsiri kencur sebagai bahan anti inflamasi, dengan mengevaluasi pengaruhnya terhadap sintesis PGE₂ sel makrofag mencit yang distimulasi dengan bakteri *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in vitro.

Sel makrofag yang berasal dari peritoneum mencit diinkubasi dengan minyak atsiri kencur dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 20% pada suhu 37°C yang mengandung 5% CO₂. *A. actinomycetemcomitans* ditambahkan pada suspensi sel dan diinkubasi selama 30 menit. Konsentrasi PGE₂ supernatan ditentukan dengan menggunakan ELISA.

Analisa statistik dengan menggunakan ANAVA menunjukkan bahwa produksi PGE₂ oleh sel makrofag mencit yang distimulasi dengan *A. actinomycetemcomitans* mengalami penurunan secara signifikan ($p < 0,05$).

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri kencur mempunyai efek antiinflamasi dengan menurunkan produksi PGE₂ oleh sel makrofag setelah distimulasi dengan *A. actinomycetemcomitans* in vitro. *Maj Ked Gi*; Juni 2009; 16(1): 37-40

Kata kunci: makrofag, prostaglandin E₂, kencur, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

ABSTRACT

Macrophages play a crucial role in the initiation and regulation of the inflammatory response by their capacity to elaborate biological mediators such as prostaglandin E₂ (PGE₂) following exposure to bacterial components. Prostaglandin E₂ is a vasodilator and a cofactor, involved in the increased vascular permeability occurring at sites of inflammation, and a mediator of bone demineralization. *Kaempferia galanga* L. is one of medical plants which is believed having potency as an immunomodulator agent. The aim of this study was to examine the effectiveness of *Kaempferia galanga* L. essential oil as an anti-inflammatory agent, by evaluating its effect on PGE₂ produced by *A. actinomycetemcomitans* stimulated mouse macrophage cells in vitro.

Mouse peritoneal macrophages were incubated with 5%, 10%, and 20% of *Kaempferia galanga*'s essential oil at 37°C in an atmosphere containing 5% CO₂. After 15 minutes, *A. actinomycetemcomitans* was added to the suspension and incubated for 30 minutes. The concentrations of PGE₂ supernatant were determined using an enzyme-linked immunosorbent assay kit.

ANOVA showed that production of PGE₂ by mouse peritoneal macrophages in response to the *A. actinomycetemcomitans* was significantly decreased ($p < 0.05$) upon treatment with *Kaempferia galanga* L. essential oil, in a dose-dependent manner.

This study indicated that *Kaempferia galanga*'s essential oil may have an antiinflammatory effect by reducing PGE₂ production by mouse macrophage cells following exposure to *A. actinomycetemcomitans* in vitro. *Maj Ked Gi*; Juni 2009; 16(1): 37-40

Key words: macrophage, prostaglandin E₂, *Kaempferia galanga* L., *Actinobacillus actinomycetemcomitans*

PENDAHULUAN

Prostaglandin E₂ (PGE₂) merupakan mediator inflamasi yang berperan penting dalam berbagai proses fisiologis tubuh.¹ Substansi ini disintesis dari asam arakhidonat yang secara normal terdapat

dalam sel mamalia dalam bentuk teresterifikasi dalam membran fosfolipid dan dilepaskan dari membran sel terutama melalui aksi dari fosfolipase A₂ yang konversinya dikatalisasi oleh enzim siklooksigenase.²

Prostaglandin E₂ berperan penting dalam

reaksi inflamasi antara lain dengan menginduksi dilatasi pembuluh darah dan meningkatkan permeabilitas kapiler sehingga menyebabkan kemerahan dan edema.³ Substansi ini juga mampu menginduksi produksi matriks metalloproteinase dan resorpsi tulang.⁴ Obat-obat antiinflamasi non steroid yang bekerja dengan menghambat sintesis PGE_2 secara efektif dapat mencegah destruksi jaringan periodontal.^{5,6}

Actinobacillus actinomycetemcomitans merupakan bakteri Gram negatif patogen, berbentuk coccobacillus yang terlibat dalam patogenesis penyakit periodontal.⁷ *A. actinomycetemcomitans* ditemukan dalam jaringan ikat pasien penderita *juvenile periodontitis*, *adult periodontitis* dan *prepubertal periodontitis*.^{8,9,10} Selain menyebabkan kerusakan jaringan secara langsung, bakteri tersebut juga merupakan stimulator kuat timbulnya reaksi inflamasi yang berakibat destruksi jaringan yang parah.¹¹

Makrofag berperan penting dalam inisiasi dan regulasi reaksi inflamasi karena mampu mensintesis berbagai substansi biologis aktif misalnya faktor-faktor pertumbuhan, lipid bioaktif, serta sitokin-sitokin antara lain nitrit oksida dan PGE_2 .^{12,13} Sel makrofag dapat teraktivasi oleh bakteri *A. actinomycetemcomitans* untuk mensekresi mediator-mediator inflamasi antara lain interleukin (IL) 1, *Tumor Necrosis Factor* α ,^{14,15} dan PGE_2 .⁴

Tanaman kencur termasuk warga dari famili *Zingiberaceae* yang berasal dari daerah tropis Asia dan banyak tumbuh di Indonesia. Masyarakat luas sering menggunakan rimpang kencur sebagai bahan obat tradisional untuk mengobati batuk, sakit kepala, sakit perut, sakit gigi dan reumatik. Keluhan-keluhan yang berhubungan dengan inflamasi tersebut dapat mereda atau bahkan sembuh setelah menggunakan kencur sebagai bahan obat tradisional.¹⁶ Namun, sampai saat ini masih diperlukan data-data ilmiah yang mendukung asumsi tersebut.

Rimpang kencur mengandung minyak atsiri yang tersusun dari *monoterpenoid*, *sesquiterpenoid* dengan komponen utama *ethylestercinnamic acid* dan *ethylesther p-methoxycinnamic acid*, *borneol*, *camphene*, *p-methoxystyrene*, λ - Δ^3 -carene, *n-pentadecane*, *p-methoxystyrene*.¹⁶

Turunan sinamat yang terdapat pada minyak atsiri kencur mempunyai aktivitas sebagai antifungi, anti karsinogenik, anti hepatotoksik, antipiretik dan analgetik.¹⁷ Penelitian terdahulu membuktikan bahwa minyak atsiri kencur dapat menurunkan IL- 1α sel makrofag mencit yang diinduksi dengan LPS *E.coli*.¹⁸

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antiinflamasi dari minyak atsiri kencur dengan meneliti pengaruh minyak atsiri kencur terhadap sintesis PGE_2 sel makrofag mencit yang diinduksi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

METODE PENELITIAN

Preparasi sel makrofag, bakteri *A. actinomycetemcomitans*, dan minyak atsiri kencur

Sel makrofag yang dipergunakan dalam penelitian ini diperoleh dari hasil isolasi sel makrofag peritoneal mencit Balb/C berumur 6-8 minggu. Suspensi sel makrofag dikultur dengan media RPMI 1640 dengan diberi suplemen *fetal calf serum* 10%, penicillin G (100 $\mu\text{g/ml}$) dan streptomycin (100 $\mu\text{g/ml}$).

Bakteri *A. actinomycetemcomitans* strain Y4 (serotipe b) ditumbuhkan secara anaerob dengan menggunakan media Todd-Hewitt yang diberi suplemen 1% ekstrak yeast.

Minyak atsiri kencur diperoleh dengan cara destilasi dan dibuat konsentrasi 5%, 10%, dan 20% dalam solusi *poly ethylene glycol* (PEG) 5%.

Stimulasi sel makrofag

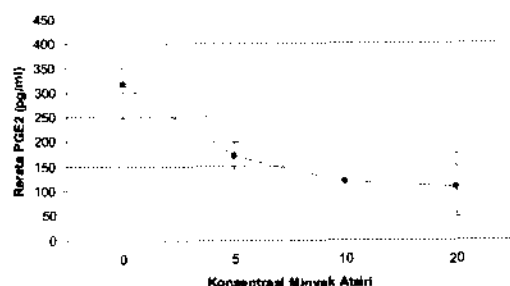
Sel makrofag dengan konsentrasi 5×10^5 sel/sumuran dikultur dalam petri 24 sumuran. Sel diinkubasi selama 24 jam di inkubator dengan suhu 37°C yang mengandung 5% CO_2 . Selanjutnya, minyak atsiri kencur konsentrasi 5%, 10%, dan 20% sebanyak 50 μl ditambahkan pada suspensi makrofag dan diinkubasi selama 15 menit di inkubator dengan suhu 37°C yang mengandung 5% CO_2 . Pada kelompok kontrol digunakan PEG 5%. Masing-masing kelompok dibuat replikasi sebanyak 2 kali. Setelah dicuci dengan RPMI, ditambahkan bakteri *A. actinomycetemcomitans* strain Y4 (serotipe b) sebanyak 106 sel dan diinkubasi lagi selama 30 menit di inkubator dengan suhu 37°C yang mengandung 5% CO_2 . Selanjutnya, supernatan ditampung dan disimpan pada freezer suhu -20°C untuk uji sintesis PGE_2 .

Pengukuran konsentrasi PGE_2

Kadar PGE_2 supernatan ditentukan dengan menggunakan enzyme-linked immunosorbent assay kit, sesuai dengan petunjuk cara penggunaan dari pabrik pembuatnya (Biotrend, Germany). Absorbansi dibaca pada 405 nm. Konsentrasi PGE_2 ditentukan melalui interpolasi dari kurve standard.

HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan sintesis PGE_2 oleh sel makrofag mencit yang distimulasi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans* dengan bertambahnya konsentrasi minyak atsiri kencur (Gambar 1).



Gambar 1. Rerata konsentrasi PGE₂ sel makrofag

Hasil Anava dari data tersebut diperoleh perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) membuktikan bahwa minyak atsiri kencur berpengaruh terhadap sintesis PGE₂. Hasil analisa dengan Least Significant Difference (LSD) menunjukkan bahwa terdapat penurunan konsentrasi PGE₂ yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok yang mendapat perlakuan dengan minyak atsiri kencur konsentrasi 5%, 10% dan 20% bila dibandingkan kontrol. Akan tetapi, tidak terdapat perbedaan konsentrasi PGE₂ yang bermakna ($P > 0,05$) antara kelompok yang mendapat perlakuan dengan minyak atsiri kencur 5% bila dibandingkan dengan 10% dan 20% serta antara kelompok yang mendapat perlakuan dengan minyak atsiri kencur 10% bila dibandingkan dengan 20%.

PEMBAHASAN

Hasil dari penelitian ini diketahui bahwa minyak atsiri kencur mampu menurunkan sintesis PGE₂ sel makrofag mencit yang diinduksi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

Stimulasi sel makrofag dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans* atau LPS *A. actinomycetemcomitans* yang dimurnikan akan menginduksi sekresi PGE₂ oleh sel makrofag. Efek yang sama dihasilkan oleh stimulasi dengan LPS *A. actinomycetemcomitans* yang dimurnikan bila dibandingkan dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*, menunjukkan bahwa LPS merupakan komponen utama dari bakteri *A. actinomycetemcomitans* yang berperan sebagai stimulator sekresi PGE₂ sel makrofag.³

Lipopolisakarida *A. actinomycetemcomitans* yang terdapat pada membran luar sel bakteri dapat dikenali oleh reseptor CD 14 sel makrofag.¹⁹ Ikatan antara CD14 dengan kompleks LPS dan LPS-binding protein (LBP) menyebabkan peningkatan ekspresi COX-2 mRNA yang akan memfasilitasi sekresi PGE₂.^{4,20}

Hasil dari penelitian ini belum bisa menerangkan mekanisme pengaruh minyak atsiri kencur terhadap penurunan sintesis PGE₂ oleh

sel makrofag yang distimulasi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*. Beberapa kemungkinan mekanismenya antara lain karena zat aktif yang terkandung di dalam minyak atsiri kencur mampu mengganggu stabilitas protein permukaan membran sel makrofag sehingga mengganggu reseptor-reseptor yang terdapat pada permukaan sel makrofag. Makrofag mengenali partikel target melalui reseptor-reseptor permukaannya yang mempunyai target yang spesifik terhadap produk-produk bakteri.^{21,22} Apabila terjadi gangguan pada reseptor-reseptornya, maka makrofag tidak akan mampu mengenali bakteri *A. actinomycetemcomitans*, sehingga sintesis PGE₂ tidak terjadi.

Penelitian terdahulu oleh penulis dkk.¹⁸ diketahui bahwa minyak atsiri kencur dapat menurunkan kemampuan sintesis IL-1 α sel makrofag. Makrofag yang distimulasi dengan LPS dapat menginduksi sekresi IL-1 α , dimana sitokin ini juga berperan sebagai stimulator sekresi PGE₂.²⁴ Pada penelitian ini, penurunan sintesis PGE₂ sel makrofag akibat minyak atsiri kencur kemungkinan juga disebabkan oleh menurunnya sintesis IL-1 α .

Setelah terjadi fagositosis oleh sel makrofag, akan terjadi peningkatan sintesis PGE₂.²⁵ Data-data penelitian pendahuluan oleh peneliti (belum dipublikasi) diketahui bahwa minyak atsiri kencur mampu menurunkan aktivitas fagositosis sel makrofag mencit terhadap *A. actinomycetemcomitans*. Penurunan aktivitas fagositosis akan berakibat penurunan sintesis PGE₂ oleh sel makrofag.

Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kencur semakin menurun sintesis PGE₂. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kencur, semakin banyak zat aktif yang terkandung dalam minyak atsiri tersebut.

KESIMPULAN

Minyak atsiri kencur mempunyai efek antiinflamasi karena berpengaruh terhadap sintesis PGE₂ sel makrofag mencit.

Minyak atsiri kencur konsentrasi 5% sudah mampu menurunkan sintesis PGE₂ sel makrofag mencit yang diinduksi dengan bakteri *A. actinomycetemcomitans*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai zat aktif dari minyak atsiri kencur yang berkhasiat sebagai zat antiinflamasi dan mekanisme kerjanya.

DAFTAR PUSTAKA

- Narumiya S, Sugimoto Y, & Ushikubi F: Prostanoid receptors: structures, properties, and functions. *Physiol Rev*, 1999; 79: 1193-226.
- Arias-Negrete S, Keller K, & Chadee K: Proinflammatory cytokines regulate cyclooxygenase-2 mRNA expression in human macrophages. *Biochem Biophys Res Comm*, 1995; 208: 582-9.
- Offenbacher S, Heasman PA, & Collins JG: Modulation of host prostaglandin E2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. *J Periodontol*, 1993; 64: 432-44.
- Noguchi K, Yanai M, Shitashige M, Nishihara T, & Ishikawa I: Cyclooxygenase-2-dependent prostaglandin production by peripheral blood monocytes stimulated with lipopolysaccharides isolated from periodontopathogenic bacteria. *J Periodontol*, 2000; 71: 1575-82.
- Tegeder I, Pfeilschifter J, & Geisslinger G: Cyclooxygenase independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J*, 2001; 15: 2057-72.
- Kirkwood KL, Cirelli JA, Rogers JE, & Giannobile WV: Novel host response therapeutic approaches to treat periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 2007; 43:294-315.
- Olsen I, Shah HN, & Gharbia SE: Taxonomy and biochemical characteristic of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontology 2000*, 1999; 20: 14-52.
- Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, & Brissette C: Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontology 2000*, 1999; 22: 136-67.
- Thiha K, Takeuchi Y, Umeda M, Huang Y, Ohnishi M, & Ishikawa I: Identification of periodontopathic bacteria in gingival tissue of Japanese periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*, 2007; 22: 201-7.
- Fine DH, Kaplan JB, Kachlany SC, & Schreiner HC: How we got attached to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: a model for infectious diseases. *Periodontology 2000*, 2006; 42: 114-57.
- Delima AJ & Van Dyke TE: Origin and function of the cellular components in gingival crevicular fluid. *Periodontology 2000*, 2003; 31: 55-76.
- Wilborn J, DeWitt DL, & Peters-Golden M: Expression and role of cyclooxygenase isoforms in alveolar and peritoneal macrophages. *Am J Physiol*, 1995; 268: L294-L301.
- Wang MH, Zhou YQ, & Chen YQ: Macrophage-stimulating protein and RON receptor tyrosine kinase: potential regulators of macrophage inflammatory activities. *Scand J Immunol*, 2002; 56: 545-53.
- Zadeh HH, Nichols FC, & Miyasaki KT: The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. *Periodontology 2000*, 1999; 20: 239-88.
- Henderson B, Wilson M, Sharp L, & Ward JM: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Med Microbiol*, 2002; 51: 1013-20.
- Duke JA: *CRC-Handbook of Medicinal Herbs*. Florida: CRC-Press, 1975: 259.
- Riyanto S: Transformasi p-Metoksisinamid dari Etil p-Metoksisinamat Yang Diisolasi dari *Kaempferia galanga* L. In: Buku *Risalah Seminar Nasional Metabolit Sekunder*. Yogyakarta: PAU Bioteknologi UGM, 1987: 98.
- Haniastuti T, Susilowati H, & Djais AA: Sintesis interleukin 1 sel makrofag mencit yang diinduksi lipopolisakarida E. coli dan minyak atsiri kencur (*Kaempferia galanga* L.) in vitro. *Indonesian Journal of Dentistry*, 2007; 14: 194-8.
- Schenkein HA: Host responses in maintaining periodontal health and determining periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2006; 40: 77-93.
- Noguchi K & Ishikawa I: The role of cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 2007; 43: 85-101.
- Keisari Y, Kabha K, Nissimov L, Schlepper-Schafer J, & Ofek I: Phagocyte-bacteria interactions. *Adv Dent Res* 1997; 11: 43-9.
- Udagawa N, Sato N, Yang S, Nakamura M, Yamashita T, Nakamura H, Noguchi T. Signal transduction of lipopolysaccharide-induced osteoclast differentiation. *Periodontology 2000* 2007; 43: 56-64.
- Page R. The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res* 1991; 26: 230-42.
- Hempel SL, Martha H, Monick M, Hunninghake GW. Lipopolysaccharide induces prostaglandin H synthase-2 protein and mRNA in human alveolar macrophages and blood monocytes. *J Clin Invest* 1994; 93: 391-6.
- Voronov, I., Santerre, J.P., Hinek, A., Callahan, J.W., Sandu, J., Boynton, E.L., Macrophage phagocytosis of polyethylene particles in vitro. *J Biomed Mater Res* 1998; 39: 40-51.